云 南 植 物 研 究 2005，27 (6)：620～628
Acta Botanica Yunnanica

狭义五福花科的分子系统学和物种分化

毛康珊[1]，姚醒蕾[2]，黄朝晖[1]

(1 兰州大学干旱与草地生态学重点实验室，甘肃 兰州 730000；2 大坂大学生物制药学系药物学研究所，日本 大坂 565-0871)

摘要：**狭义五福花科** (Adoxaceae.s.s) **仅含 3 属 4 种，但该科的物种分化、系统发育和分类一直存在争议。本文通过测定东方五福花和血满草的 ITS (核糖体 DNA 内转录间隔区) 序列，构建了包括狭义五福花科 (4 种)、广义忍冬科接骨木属、荚　属以及其余 4 属植物在内的系统发育树。研究结果不支持狭义五福花科内根据形态学证据做出的系统发育假设：四福花不是该科中最早分化出来的种；该物种与五福花属的两个物种形成一个单系群，与另一分支华福花属相对应。该科中 3 个物种，四福花、五福花和华福花之间的分化主要是在二倍体水平上的异域分化，而东方五福花则是通过多倍化形成的。粗略的时间估算表明这些物种之间的分化较晚，可能在第三纪末至第四纪早中期，与青池高原近期强烈隆升以及冰期气候反复变化形成的环境变迁密切相关。**

关键词：**五福花科；分子系统学；物种分化；高原隆升**

中图分类号：Q 949，Q 943　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253 - 2700(2005)06 - 0620 - 09

Molecular Phylogeny and Species Speciation of Adoxaceae.s.s

MAO Kang-Shan[1]，YAO Xing-Lei[2]，HUANG Zhao-Hui[1 **]

(1 *Key Laboratory of Arid and Grassland Ecology*，*Lanzhou University*，Lanzhou 730000，China；
2 *Department of Biopharmaceutics*，*Graduate School of Pharmaceutical Sciences*，*Osaka University*，
1-6 *Yamadaoka*，Suita，Osaka 565-0871，Japan)

Abstract：It remains unclear about the speciation and phylogeny of Adoxaceae s.s.，a small family with 3 genera and 4 species. In this paper，ITS (nuclear DNA internal transcribed spacer) regions of *Adoxa orientalis* and *Sambucus adnata* were firstly sequenced. Phylogenetic trees were constructed for all species of Adoxaceae (four species)，*Sambucus*，*Viburnum* and four genera of Caprifoliaceae. The divergences among four species of this family were further calculated based on the calibration of the fossil records of the Caprifoliaceae and the general evolutionary rate of herbs for ITS. The phylogenetic analyses did not support the previous assumptions on the phylogeny and species divergence of Adoxaceae s.s. based on the morphological evidence：*Tetradoxa* is not the firstly diverged and it clustered with two species of *Adoxa* as a

基金项目：**教育部优秀博士论文基金** (FAN2003027)
现工作单位：**湖北省天门市环保局**
收稿日期：2005 - 04 - 18，2005 - 09 - 05 **接受发表**
作者简介：**毛康珊** (1983 -) **男，甘肃人，在读硕士研究生，主要从事分子生态学及生物地理学研究。**
E - mail：maokangshan@yahoo.com.cn

monophylogenetic group, paralleling to the other lineage comprising of monotypic *Sinadoxa* . The allopatric speciation at the diploid level might have contributed to the differentiation among *Sinadoxa corydalifolia*, *Tetradoxa omeiensis* and *Adoxa moschatellina* and the polyploidy to the origin of *A. orientalis* . The crude timing based on ITS sequence differentiation suggested a recent divergence among all four species probably between the late Miocene and the Tertiary and this speciation process might be closely correlated with habitat fragmentation and change due to the extensive uplifts of the Qinghai-Tibetan Plateau and climatic oscillation during the glacial and interglacial ages occurred at this stage .

Key words: Adoxaceae; Molecular phylogeny; Speciation; Uplifts of the Qinghai-Tibetan Plateau

五福花科（Adoxaceae）属双子叶植物纲（Dicotyledoneae）川续断目（Dipsacles）(邱莲卿等，1986)。五福花科植物皆为多年生小草本，聚伞花序顶生成头状或排列成间断的穗状花序；花小，合萼，合瓣，3～5 基数；雄蕊 2 轮，内轮退化，外轮着生在花冠上，分裂为 2 半蕊，花药单室，盾形，外向，纵裂；心皮与花部同数或异数，子房半上位至下位，花柱有或无，柱头点状；果为核果 (邱莲卿等，1986)。根据梁汉兴和吴征镒 (1995) 的分类修订，含 3 属 4 种：五福花属两种，五福花 *Adoxa moschatellina* Linn 和东方五福花 *A. orientalis* Nepomn；单种属四福花 *Tetradoxa omeiensis* (Hara) C . Y . Wu；和单种属华福花 *Sinadoxa corydalifolia* C . Y . Wu，Z . L . Wu et R . F . Huang。其中五福花广布北温带，分布于北纬 27°～60°之间，北美、欧洲和亚洲均有分布；东方五福花分布在我国的东北和苏联远东地区 (梁汉兴和吴征镒，1995)，四福花特产青藏高原东部的横断山区 (吴征镒，1981)，华福花特产于青藏高原的青海南部地区 (吴征镒等，1981)。

Hara (1981) 发表四福花时将其置于五福花属中，吴征镒 (1981) 将其独立为属。但是 Hara (1983) 再次坚持该种不应独立为属；随后，李世友和宁祝华 (1987) 在五福花属下设立四福花亚属 Subg. *Tetradoxa* 和五福花亚属 Subg. *Adoxa* 2 个亚属。关于狭义五福花科 4 种植物的系统发育关系，已有作者根据花形态、地理分布以及染色体证据做出了基本假设 (吴征镒，1981；吴征镒等，1981；梁汉兴和吴征镒，1995)。四福花染色体数 2n = 36，总状花序，顶花侧花同型同数，花部维管结构整齐对称，雄蕊束与花瓣束分离，因而被认为是该科中最早分化出来最为原始的类群。五福花 *A. moschatellina*，头状花序，顶花侧花异型异数，染色体数为 2n = 36，54；东方五福花 *A. orientalis*，头状花序，顶花侧花异型异数，染色体数为 2n = 108，被认为与五福花具有密切亲缘关系。华福花 *S. corydalifolia* 具有高度复合的由 3～5 朵或更多花聚集成的团伞花序间断地排列在花序轴上构成间断的穗状花序，顶花侧花异型异数。此外在根状茎、叶、花萼和子房等方面较前两属有较多特化，是该科中最为进化的类群。4 种植物的核型比较发现，华福花与二倍体五福花、四福花的核型基本一致，没有显著区别，暗示 3 属的物种分化可能主要以异域分化为主 (Liu 等，1999)。

近年来，基于胚胎学、花发育学和分子系统学的研究结果发现，狭义五福花科与原来置于广义忍冬科中的接骨木属 *Sambucus*、荚　属 *Viburnum* 具有紧密的亲缘关系，后两属应放在五福花科中，组成广义的五福花科 (Donoghue，1983；Benko-Iseppon and Morawetz，1993；Roels and Smets，1994；Eriksson and Donoghue，1997；Zhang 等，2003)。在研究这两个科的科间界限过程中，积累了较多的分子证据。狭义五福花科中 (文中涉及的五福花

科，若无特殊说明，皆指狭义五福花科 Adoxaceae.s.s)，五福花、四福花和华福花 3 种植物的 ITS 序列已有报道 (Eriksson and Donoghue，1997；刘建全等，2000)，但是一直没有关于狭义五福花科 4 个物种之间分子系统进化关系的工作，利用核基因片段构建广义五福花科系统进化关系的工作也尚未开展。因此，我们补充了东方五福花和接骨木属的 ITS 序列，将狭义五福花科 4 种、广义忍冬科的接骨木属、荚 属和忍冬科 4 属植物作为内群，选择五加科 (Araliaceae) 的人参 (*Panax ginseng*) 作为外类群，构建分子系统发育树，主要目的是：(1) 对狭义五福花科根据外部形态提出的系统发育假说进行验证；(2) 依据 ITS 序列，初步估算该科中物种的分化时间，对其物种分化的生态背景进行讨论。

1 材料和方法

1.1 实验材料

东方五福花和血满草 (*Sambacus adnata*) 分别采自黑龙江和青海。其余物种的序列来源于 GenBank。材料的来源及测定序列注册编号见表 1。

表 1 材料来源及 GenBank 序列编号

Table 1 The sources of materials and Genebank accession number

分类群 Taxon	材料来源 Source	序列号 Accession number
东方五福花 *Adoxa orientalis* Nepomn.	黑龙江大兴安岭新林区 New forest farm, Great Xingan Mountains, Heilongjiang, China	DQ009612
五福花 *Adoxa moschatellina* Linn.	From GenBank	AMU88194
华福花 *Sinadoxa corydalifolia* C. Y. Wu, Z. L. Wu et R. F. Huang.	From GenBank	AF248611
四福花 *Tetradoxa omeiensis* (Hara) C. Y. Wu.	From GenBank	TOM419710
血满草 *Sambucus adnata* Wall.	青海互助 Huzhu, Qinghai, China	DQ009613
荚 *Viburnum acerifolium* Linn.	From GenBank	AY265114
皱叶荚 *Viburnum rhytidophyllum* Hemsl.	From GenBank	AY265146
红脉忍冬 *Lonicera nervosa* Maxim.	From GenBank	AY236173
穿心莛子 *Triosteum himalayanum* Wall.	From GenBank	AF265289
锦带花 *Weigela hortensis* (Siebold & Zucc.) K. Koch.	From GenBank	AY236178
双盾木 *Dipsacus mitis* D. Don.	From GenBank	AY236187
人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer.	From GenBank	PGU41680

1.2 DNA 提取

血满草的总 DNA 提取采用改进的 CTAB 法 (Doyle and Doyle，1987)。东方五福花使用 DNA-easy 试剂盒提取总 DNA。

1.3 ITS 及 5.8S 区的扩增及纯化

血满草 ITS 区扩增使用引物 ITS1a (Forward，5′-AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGG-3′) 和 ITS4 (Reverse，5′-TCCTCC GCTTATTGATATGC-3′) 直接扩增包含 5.8S RNA 在内的整个 ITS 区；东方五福花则使用 ITS1a 和 ITS2 (Reverse，5′-GCTACGTTCTTCATCGATGC-3′)，ITS3 (Forward，5′-GCATCGATGAAGAACGYAGC-3′) 和 ITS4 分别扩增 ITS1 和 ITS2 区，将 5.8S 区重复在内 (White 等，1990)。扩增反应在 Biometra 梯度 PCR 扩增仪上进行。反应体系为 25 μl，包含 DNA 模板 30～50 ng，Mg^{2+} 1.5 mmol L，dNTP 0.2 mmol L，引物 6.25 pmol，TaqDNA 聚合酶 1.5 U。扩增程序为：70℃ 1 min，后 94℃ 1 min，55℃ 20 s，72℃ 50 s，循环 2 次，再以 94℃ 20 s，55℃ 20 s，72℃ 50 s，循环 38 次，在 72℃保温 4 min。扩增得到的 PCR 产物利用 CASpure PCR Purification Kit (上海中科开瑞生物芯片科技股份有限公司) 纯化。

1.4 DNA 测序

纯化后的产物利用上述扩增使用时的引物和 Amersham 公司的 DYEnamic Dye Terminator Cycle Sequencing Kit 试剂盒进行测序 PCR 扩增，条件为：94°15 s，50°15 s，60°90 s，循环 25 次。产物用 Amersham 公司 Autoseq 96 Plates 纯化，在 MegaBACE 500 DNA Analysis System 上进行测序。血满草每条链均能完整读出 600 bp 以上。东方五福花的正反 4 条链均能完整读出 300 bp 以上；测序的每一区域，正反两条链相互重叠大于 90%。

1.5 数据分析与系统树构建

序列排列用 Clustal X 软件完成（Thompson 等，1997），排完后适当手工校正。排好的序列用 PAUP4.0b4a 进行系统发育分析（Swofford，2003）。在 PAUP4.0 中利用 Kimula-2P 模型，计算研究类群的距离矩阵。利用 PAUP4.0b4a 作简约（Parsimony）分析时，gap 始终作为缺失状态，使用启发式（Heuristic）搜索最大简约树，采用 100 次重复的随机加入（random addition of 100 replicates）寻找最简约树的岛屿（islands）分布。利用 bootstrap（1000 次重复）（Felsenstein，1985）检验各分支的置信度。利用 Modeltest 选择研究数据的最佳进化模型。利用 PAUP4.0b4a 作似然（likelihood）分析时选取在 Modeltest 中计算得到的模型，使用启发式搜索最大似然树，同样利用 bootstrap（1000 次重复）检验各分支的支持率。

1.6 相对速率检测和分化时间估算

利用使用和不使用分子钟假设所得到的最大似然值（log likelihood）之差乘 2，利用单因素方差分析检验其显著性（Goldman，1993）。由于研究数据不符合分子钟假设，我们采用不使用分子钟假设所得到的最大似然树，保留其枝长，然后利用化石证据在 TreeEdit 下利用 NPRS 方法计算主要物种的分化时间（Rambaut and Charleston，2000）。同时利用多年生草本进化速率（Sang 等，1995；王玉金等，2004；王玉金和刘建全，2004；Liu 等，2002），计算主要物种之间的分化时间。

2 结果与分析

2.1 系统发育关系

所研究类群的 ITS 遗传距离见表 2。五福花和东方五福花之间的分化为 0.519%，大于五福花和四福花之间的分化 0.499%。研究类群的 ITS 序列长度排序后矩阵长 656 位点；排除缺失（gap）后，具有信息位点 202 个，启发式搜索得到 1 棵最大简约树，CI = 0.7984；HI = 0.2016；RI = 0.8280；RC = 0.6611，见图 1 右。Modeltest 发现 K2P + Γ 为该序列矩阵最佳进化模型；在 K2P + Γ 模型下启发式搜索得到 1 棵最大似然树，如图 1 左所示，各主要分支都得到了较高的支持率。

表 2　根据 ITS 变异计算研究类群的遗传距离（Kimura 2-parameter）

Table 2　The genetic distances between paired species analyzed (Kimura 2-parameter) of ITS sequence variaiton

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	*Adoxa moschatell*	-											
2	*Tetradoxa omeien*	0.00499	-										
3	*Adoxa orientalis*	0.00519	0.01028	-									
4	*Sinadoxa corydal*	0.03574	0.04081	0.04247	-								
5	*Sambucus adnata*	0.12654	0.13422	0.13505	0.14443	-							
6	*Viburnum acerifo*	0.24136	0.24565	0.25220	0.25753	0.19924	-						
7	*Viburnum rhytido*	0.23890	0.24544	0.25461	0.24971	0.19212	0.05309	-					
8	*Lonicera nervosa*	0.34696	0.35123	0.36488	0.35559	0.29193	0.22223	0.23252	-				
9	*Triosteum himala*	0.34045	0.34465	0.35799	0.34939	0.28433	0.21096	0.21831	0.05036	-			
10	*Weigela hortensi*	0.32572	0.32988	0.34045	0.33018	0.27022	0.21318	0.20419	0.10180	0.07988	-		
11	*Dipsacus mitis*	0.35724	0.36415	0.37797	0.36363	0.31869	0.25792	0.26755	0.15915	0.15609	0.16281	-	
12	*Panax ginseng*	0.34150	0.34563	0.36121	0.34213	0.31322	0.25132	0.26477	0.22863	0.21406	0.21161	0.22520	-

2.2 相对速率和分化时间

在 K2P + Γ 模型下，使用和不使用分子钟假设所得到的最大可能值显然不支持分子钟假设（-2 Ln LR = 2（2212.6880 - 2194.5623）= 34.25，df = 10，$P < 0.01$）。将最大似然树的分枝长度保留，在 TreeEdit 下利用 NPRS 优化分枝长度，利用荚 属的化石进化估算各分支的起源时间。与荚 属花粉类似的最早化石花粉记录为始新纪中晚期（middle and upper Eocene）的 *Tricolporopollenites viburnoides*，与 *Viburnum odoratissimum* 和 *V. pinctatum* 花粉相似（Punt 等，1987）。我们以始新纪中晚期 39～50 Myr（million years ago，百万年；下同）作为荚 属的起源时间在最大似然树上进行外标记，得到图 2。华福花属和五福花属分歧的时间为 3.58～4.59 Myr，五福花属和四福花属 3 种植物这一支的分歧时间是 0.99～1.27 Myr。使用这一标记，接骨木属的起源时间为 17.1761～22.0207 Myr，锦带花属的起源时间 32.85～42.12 Myr。接骨木属最早的花粉化石证据来自渐新世 Oligocene（22～39 Myr），锦带花属最早的花粉化石证据（～39 Myr）来自渐新世早期（lower Oligocene）(Punt 等，1987)。因此，我们这里标记的时间与化石时间应该是基本吻合的。

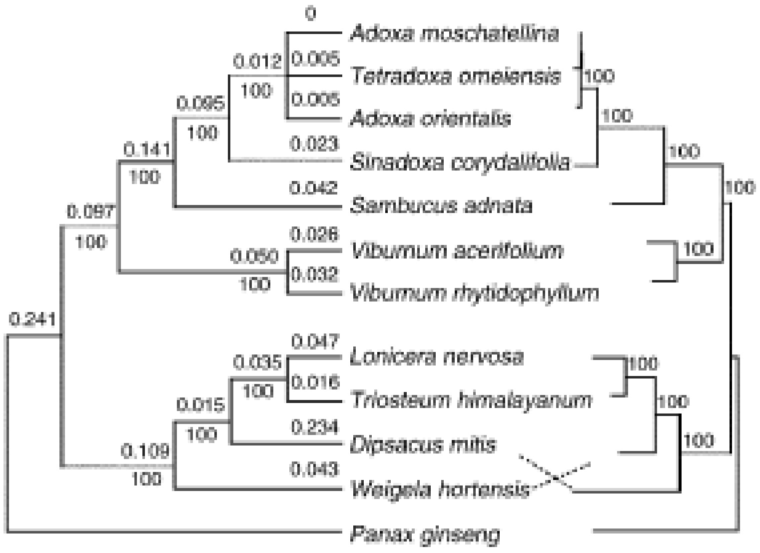

图 1 右，简约性分析得到的唯一一棵最大简约树，各分支上方的数字表示各分支在 bootstrap 1000 次重复分析中的支持率；左，依据 K2P + Γ 模型得到的最大似然树

Fig. 1 Right, The single most-parsimonious tree obtained from the parsimony analysis of the ITS sequences and numbers above the branches indicate the bootstrap value; Left, Maximum likelihood tree obtained under K2P + Γ model

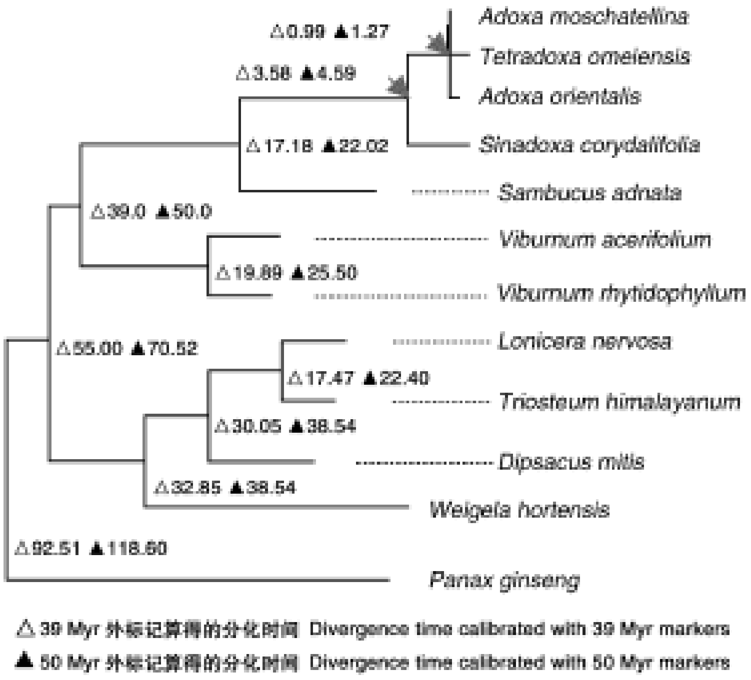

图 2 在最大似然树下利用荚 属花粉化石的上限 50 Myr 和下限 39 Myr 分别作为外标记得到的各分支分化时间

Fig. 2 The divergence times of each clade calibrated using 50 Myr (upper limit) and 39 Myr (lower limit) of fossil pollens of *Viburnum* within the Maximum likelihood tree

因为草本植物和木本植物的进化速率存在差异，草本植物的进化速率快于木本植物 (Baldwin 等，1995)；因而在利用分子钟估算物种之间的分化时间时，一般都采用不同的速率来估算物种之间的分化时间，提供可能存在的误差范围（王玉金等，2004；王玉金和刘建全，2004；Richard 等，2001 a, b），并对化石或者地质标记的时间进行相互验证（Richardson 等，2001b）。如果利用被子植物中进化速率最快的多年生草本进化速率，7.83 × 10 -9 (s s y)（Sang 等，1995；Richardson 等，2001a）来标记各分支之间的分化时间，华福花属和五福花属的分歧时间为 2.3 Myr；四福花与五福花和东方五福花 3 种植物的分歧时间是大约 0.32 Myr。我们必须指出，这里标记的分歧时间具有相当大的误差，必须十分小

心与来自地质学以及古植被方面的其它证据结合使用；因为相对速率检验发现种间存在非匀速进化；而且不同类群、不同地区分子进化速度存在差异（Wilson 等，1990；Gaut 等，1992，1993）。另外，由于化石证据中的古生物与现代生物之间存在差异，本文使用化石标记得到的其余各属时间不应视为现代物种起源的时间。该研究使用的化石标记的时间幅度主要与北半球主要的地质、气候环境变迁的重要事件相比较；并对五福花科物种分化的生态背景进行讨论。从化石以及利用其它物种进化速率标记的五福花科 4 种植物的分化时间来看，华福花与五福花等 3 种的分化时间约在 4 Myr～2 Myr，而其余 3 种的分化约在 1.2 Myr～0.3 Myr；都是在第三纪末至第四纪早中期这一时间范围内。

3　讨论

3.1　狭义五福花科的系统发育、分类处理和系统位置

我们的研究结果表明，五福花科 4 种植物分为两支：华福花支和五福花支。前者仅含华福花一个种；而五福花支含四福花、五福花和东方五福花 3 个种，这 3 个种之间的分歧关系在所有的分析中都没有得到分辨。这一结果表明，华福花的分化早于其余 3 个种之间的分化。这一研究结果显然不支持将四福花作为该科中最原始的种类（吴征镒，1981；吴征镒等，1981；梁汉兴和吴征镒，1995）。因为华福花分布在比较特化的高寒生境中，具有的形态特征也都假设为适应高寒环境的特化特征（吴征镒等，1981），从而认为是最为特化的种类。但是，本文的研究结果表明，华福花在现存的种类中是最早分化出来的（图 1）。

四福花属是否应独立为属存在一定的争论（Hara，1981，1983；吴征镒，1981；李世友和宁祝华，1987）。ITS 序列比较表明，四福花与五福花和东方五福花的遗传差异仅有 0.50% 和 1.02%；而五福花和东方五福花之间的遗传分化为 0.52%，大于五福花和四福花之间的遗传差异。这 3 个种与华福花的遗传距离分别为 3.57%、4.08% 和 4.25%。ITS 序列在各个类群之间的进化速率不一样，可能造成不同类群中，种间、属间的遗传差异存在区别（Baldwin 等，1995）。木本植物的进化速率较草本植物慢，因而同一属内物种之间的遗传差异往往低于草本属内种之间的遗传分化（Baldwin 等，1995）。我们通过比较发现，木本荚 属 2 个种之间的分化为 5.3%，大于五福花科中 4 个种之间的遗传分化；如果仅从遗传分化来看，这 4 个种作为一个属来处理更为合理。但是，华福花与其余 3 个种存在极大的形态区别，具有团伞花序构成的穗状花序；并且在分支图上（图 1）也是最早作为一个独立分支分化出来，因此作为一个独立的属比较合理。而四福花、五福花和东方五福花 3 个种之间的形态分化不如华福花明显，并且遗传分化又较小，因而支持将这 3 个种作为 1 个属处理（Hara，1981，1983）。

近年来，基于胚胎学、花发育学和分子系统学的研究结果发现，狭义五福花科与原来置于广义忍冬科中的接骨木属、荚 属具有紧密的亲缘关系，后两属应放在五福花科中，组成广义的五福花科（Donoghue，1983；Benko-Iseppon and Morawetz，1993；Roels and Smets，1994；Eriksson and Donoghue，1997；Zhang 等，2003）。Zhang 等（2003）利用叶绿体的两个基因片段 *trn*L-F 和 *ndh*F 对川续断目（Dipsacales）各科之间的系统进化位置进行了比较，结果支持将接骨木属、荚 属并入五福花科。本文利用核糖体基因片段 ITS 构建两种系统进化树都发现，五福花科作为单系群，是接骨木属的姊妹群；其组成的分支，成为荚 属

的姊妹群。这种二岐式的分支关系以及它们之间较小的 ITS 遗传分化距离（<30%，表 2）都支持将接骨木属、荚　属并入广义的五福花科。如果要做科下等级的分类划分，接骨木属、荚　属和狭义的五福花科都应视为相同的分类等级，如作为 3 个族（tribe）或者亚科（subfamily）处理（Eriksson and Donoghue，1997；Zhang 等，2003）。

3.2　物种分化与地理分布

对狭义五福花科 4 个种的染色体研究发现，华福花与四福花均为二倍体（2n = 36），五福花有二倍体和三倍体（2n = 36、54）、东方五福花为六倍体（2n = 108）；3 种二倍体植物之间的核型基本一致；这一研究结果表明该科 3 种二倍体植物之间的分化可能主要为异域分化，而东方五福花则是通过多倍化形成的（Liu 等，1999）。五福花科 4 个种地理分布如下：五福花广布北温带，分布于北纬 27°～60°之间，北美，欧洲和亚洲均有分布；东方五福花分布在我国的东北和苏联远东地区（梁汉兴和吴征镒，1995），四福花特产青藏高原东部的横断山区（吴征镒，1981），华福花特产于青藏高原的青海南部地区（吴征镒等，1981）。利用化石进行外标记和利用草本植物的进化速率标记均表明，华福花属和五福花属分支的分歧时间，约为 2.3～4.5 Myr，即为地质史中的上新世末至第四纪初，这一时期正是青藏高原环境变迁最为强烈的时期。上新世的 3 Myr 至 4 Myr 间青藏高原整体进行了强烈抬升，这一隆升过程延续到 1.7 Myr 左右；这一次隆升不仅改变了该地区的水系，而且导致亚洲季风气候的形成，并彻底改变了该地区的整体环境（施雅风等，1998）。华福花属则可能是在这一时期由于该地区高原隆升而导致的环境与植被改变，首先从其祖先通过异域分化出来；并通过地理隔离最后局限分布在青藏高原的中心，即青海南部地区。由于环境剧烈变化，容易造成隔离小居群的快速分化成种，从而固定特殊和稀有的形态特征，在形态分化上高于一般渐进隔离成种的形态分化；但遗传分化上，由于时间短，而没有积累足够的遗传分化（Kadereit，1994）。这可能是华福花形态分化明显而遗传分化较小的主要原因。青藏高原地区由于第三纪末开始的大规模隆升，造成了大量类似华福花属的例子，如该地区特有属辐花属（*Lomatogoniopsis*，Gentianaceae；Liu 等，2001a）以及穗花韭属（*Milula*，Liliaceae；Friesen 等，2000；Tang 等，2005）等。这些类群都具有十分独特的分化明显的形态特征，被独立为属，但它们与近缘类群之间遗传分化却十分小，只相当于属内种之间的分化（Friesen 等，2000；Liu 等，2001a）。

利用花粉化石标记的最大似然树（图 2）表明四福花、五福花、东方五福花 3 种的分化时间大约是在 0.32～1.2 Myr。这 3 种植物的分化则似乎与北半球第四纪冰期气候的强烈变化有关。第四纪冰期始于大约 2.5 Myr 前，冰期与间冰期的反复交错却一直延续到 1 万年左右（施雅风等，1998）。这一时期最为明显的植被特征是针叶林群落进一步发展，且随气温的降低向低纬度地区迁移，而当温度升高时，又向高纬度地区回迁（Hewitt，2000）。四福花、五福花、东方五福花均分布在针叶林下；他们的祖先则也应分布在类似的环境中，可能是在气候反复变化过程中，随针叶林的来回迁移而造成森林片段的破碎化，在我国的横断山区通过隔离分化形成四福花；而东方五福花则是通过多倍化与生境隔离相结合而形成的。五福花在欧洲的分布则可能是在冰后期随中国北部、西北利亚至欧洲针叶林带迁移扩散的结果。我们的研究结果虽然不支持吴征镒（1981）、梁汉兴和吴征镒（1995）提出的该科系统发育假设以及分类处理，但是该结果仍然支持该科的分化中心在

我国西南地区，即青藏高原东部的横断山及相邻的青南地区。狭义五福花科作为北温带植物分布的典型代表（**吴征镒**，1981），**它的物种分化和扩散模式也应同样存在于其它具有类似分布式样的科属中。五福花科在其分化中心——青藏高原地区，由于环境变迁造成的二倍体水平上的隔离分化成种式样，也发现存在于其它以该地区为分化中心的属中，如橐吾属**（*Ligularia*，Asteraceae；Liu，2004）、**垂头菊属**（*Cremanthodium*，Asteraceae；Liu **等**，2001b）**以及高山豆属**（*Tibetia*，Fabaceae；**聂泽龙等**，2004）**等类群中。**

〔参 考 文 献〕

Baldwin BG，Sanderson MJ，Porter JM，*et al*，1995．The ITS region of nuclear ribosomal DNA：a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny［J］．*Ann Mo Bot Gard*，82：247—277

Benko-Iseppon AM，Morawetz W，1993．Cold-induced chromosome regions and karyosystematics in *Sambucus* and *Viburnum*［J］．*Bot Acta*，106：183—191

Donoghue MJ，1983．A preliminary analysis of phylogenetic relationships in *Viburnum* (Caprifoliaceae)［J］．*Syst Bot*，8：45—58

Doyle JJ，Doyle JL，1987．Rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissues［J］．*Phytochem Bull*，19：11—15

Eriksson T，Donoghue MJ，1997．Phylogenetic relationships of *Sambucus* and *Adoxa* (Adoxaceae) based on nuclear ribosomal ITS sequences and preliminary morphological data［J］．*Syst Bot*，22：555—573

Felsenstein J，1985．Confidence limits on phylogenies：an approach using the bootstrap［J］．*Evolution*，39：783—791

Friesen N，Fritsch RM，Pollner S，*et al*，2000．Molecular and morphological evidence for an origin of the aberrant genus *Milula* within Himalayan species of *Alllium* (Alliaceae)［J］．*Mol Phylogenet Evol*，17：209—218

Gaut BS，Muse SV，Clark WD，1993．Relative rates of nucleotide substitution in the chloroplast genome［J］．*Mol Phylogenet Evol*，2：89—96

Gaut BS，Muse SV，Clark WD，*et al*，1992．Substitution rate comparisons between grasses and palms：synonymous rate differences at the nuclear gene *Adh* parallel rate differences at the plastid gene *rbc*L［J］．*Proc Natl Acad Sci USA*，93：10274—10279

Goldman N，1993．Statistical tests of models of DNA substitution［J］．*J Mol Evol*，36：182—198

Hara H，1983．A revision of Caprifoliaceae of Japan with reference to allied plants in other districts and the Adoxaceae．In GINKGOANA contribution to the flora of Asia and the Pacific region．No．5［M］．Tokyo：Academia Scientific Book INC

Hara H，198l．A new species of the genus *Adoxa* form Mt．Omei of China［J］．*J Jap Bot*，56：271—274

Hewitt G，2000．The genetic legacy of the Quaternary ice ages［J］．*Nature*，2002 Jun 22；405 (6789)：907—913

Kadereit JW，1994．Molecules and morphology，phylogenetics and genetics［J］．*Bot Acta*，107：369—373

Li SY（**李世友**），Ning ZH（**宁祝华**），1987．Studies on the family Adoxaceae［J］．*Bull Bot Res*（**植物研究**），7：93—109

Liang HX（**梁汉兴**），Wu ZY（**吴征镒**），1995．On the Taxonomic System，Phylogeny and Distribution in Adoxaceae［J］．*Acta Bot Yunnan*（**云南植物研究**），17：380—390

Liu JQ，2004．Uniformity of karyotypes in *Ligularia* (Asteraceae：Senecioneae)，a highly diversified genus of the eastern Qinghai-Tibet Plateau highlands and adjacent areas［J］．*Bot J Linn Soc*，144：329—342

Liu JQ，Gao TG，Chen ZD，*et al*，2002．Molecular phylogeny and biogeography of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Nannoglottis* (Asteraceae)［J］．*Mol Phylogenet Evol*，23：307—325

Liu JQ，Chen ZD，Lu AM，2001a．A preliminary study of the phylogeny of the *Swertiinae* (Gentianaceae) based on ITS data［J］．*Isr J Pl Sci*，43：301—308

Liu JQ，Ho TN，Liu SW，*et al*，2001b．Karyological studies on the Sino-Himalayas endemic genus，*Cremanthodium* (Asteraceae：Senecioneae)［J］．*Bot J Linn Soc*，135：107—112

Liu JQ（**刘建全**），Chen ZD（**陈之端**），Lu AM（**路安民**），2000．The Phylogenetic Relationships of an Endemic Genus Sinadoxa in the Qinghai-Xizang Plateau：Evidence from ITS Sequence Analysis［J］．*Acta Bot Sin*（**植物学报**），42 (6)：656—658

Liu JQ, Zhou GY, Ho TN, *et al*, 1999 . Karyomorphology of *Sinadoxa* and its systematic significance [J] . *Caryologia*, 52: 159—164

Nie ZL (**聂泽龙**), Sun H (**孙航**), Gu ZJ (**顾志建**), 2004 . A survery of chromosome numbers from angiosperms of Hengduan Mountains, S . W . China [J] . *Acta Bot Yunnan* (**云南植物研究**), 26: 35—57

Punt W, 1987 . Review of Palaeobotany and Palynology [M] . Paris: Elsevier Press

Qiu LQ (**邱莲卿**), Wang HJ (**王汉津**), He SY (**贺士元**), 1986 . Flora Reipublicae Popularis Sinicae (**中国植物志**) 73 (1) [M] . Beijing (**北京**): Science Press (**科学出版社**)

Rambaut A, Charleston M, 2000 . [DB OL] . TreeEdit version 1.0 alpha 10 . (http: evolve.zoo.ox.ac.uk software TreeEdit TreeEdit.html)

Richardson JE, Pennington RT, Pennington TD, *et al*, 2001a . Rapid diversification of a species-rich genus of neotropical rain forest trees [J] . *Science*, 293: 2242—2245

Richardson JE, Weitz FM, Fay MF, *et al*, 2001b . Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa [J] . *Nature*, 412: 181—183

Roels P, Smets EF, 1994 . A comparative floral ontogenetical study between *Adoxa moschatellina* and *Sambucus ebulus* [J] . *Belg J Bot*, 127: 157—170

Sang T, Crawford DJ, Stuessy TF, *et al*, 1995 . ITS sequences and the origin and evolution of the genus *Robinsonia* (Asteraceae) on the Juan Fernandez Island [J] . *Sys Bot*, 20: 55—64

Shi YF (**施雅风**), Li JJ (**李吉均**), Li BY (**李炳元**), 1998 . Uplift and Environmental Changes of Qinghai-Tibetan Plateau in the late Cenozoic (**青藏高原晚新生代隆起与环境变化**) [M] . Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press

Swofford DL, 2003 . PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods), Version 4.0b 10 [Z] . Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates

Tang HG, Meng LH, Ao SQ, *et al*, 2005 . Origin of the Qinghai-Tibetan Plateau endemic *Milula* (Liliaceae): further insights from karyological comparisons with *Allium* [J] . *Caryologia*, 58: 450—459

Thompson JD, Gibson TJ, Plewinak F, 1997 . The Clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J] . *Nucl Acid Res*, 25: 4876—4882

Wang YJ (**王玉金**), Li XJ (**李小娟**), Hao G (**郝刚**), *et al*, 2004 . Molecular phylogeny and biogeography of *Androsace* (Primulaceae) and the convergent evolution of cushion morphology [J] . *Acta Phytotax Sin* (**植物分类学报**), 42: 481—499

Wang YJ (**王玉金**), Liu JQ (**刘建全**), 2004 . A preliminary investigation on the phylogeny of *Saussurea* (Asteraceae: Cardueae) based on chloroplast DNA *trn*L-F sequences [J] . *Acta Phytotax Sin* (**植物分类学报**), 42: 136—153

White TJ, Bruns TD, Lee SB, *et al*, 1990 . Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [A] . In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) .: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications [M] . London: Academic Press

Wilson MA, Gaut B, Clegg MT, 1990 . Chloroplast DNA evolves slowly in the palm family [J] . *Mol Biol Evol*, 7: 303—314

Wu CY (**吴征镒**), 1981 . Another new genus of Adoxaceae, with special references on the infrafamiliar evolution and the systematic position of the family [J] . *Acta Bot Yunnan* (**云南植物研究**), 3: 383—388

Wu CY (**吴征镒**), Wu ZL (**吴珍兰**), Huang RF (**黄荣福**), 1981 . *Sinadoxa* C . Y . Wu, Wu Z . L . et Huang R . F ., genus novum familiae Adoxaceae [J] . *Acta Phytotax Sin* (**植物分类学报**), 19: 203—210

Zhang WH, Chen ZD, Li JH, *et al*, 2003 . Phylogeny of the Dipsacales s.l . based on chloroplast *trn*L-F and *ndh*F sequences [J] . *Mol Phylogenet Evol*, 26: 176—189